

**Шамшурина Е.О.^{1*}, Могиленских А.С.^{1,2},
Сазонов С.В.^{1,2}, Улитко М.В.^{2,3},
Демидов С.М.^{1,2}, Титова С.А.³**

ОПЫТ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК КАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ТРОЙНОГО НЕГАТИВНОГО ПОДТИПА

¹ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет,

²ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»;

³ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»,
г. Екатеринбург, Российская Федерация

Введение

Учитывая морфологическую гетерогенность рака молочной железы (РМЖ) [1, 2], длительное культивирование опухолевых клеток приводит к появлению субпопуляций, которые изменяют изначальные характеристики опухоли [3], поэтому в настоящее время требуется экспериментальная модель — первичная клеточная культура опухоли, с последующим выделением и поддержанием клеточной линии опухоли от пациенток.

Задачи

Отработка методики культивирования клеток РМЖ с различными биологическими подтипами с целью создания персонифицированной экспериментальной модели.

Материалы и методы

Для исследования использовали операционный материал карцином молочной железы от двух пациенток, который транспортировали в лабораторию в стерильной среде (PBS и 1% раствора антибиотиков-антимикотиков). После измельчения фрагменты диссоциировали в среде DMEM: F-12 с добавлением коллагеназы, гиалуронидазы, трипсина и помещали на инкубацию в течение 16 часов при стандартных условиях. Отфильтрованные после диссоциации образцы центрифугировали при 1600 об/мин в течение 10 мин. Осадок ресуспендировали в полной питательной среде (DMEM:F-12, 5% FBS с добавлением антибиотика-антимикотика) и переносили во флаконы в посевной концентрации 3×10^5 клеток/мл. Культивирование проводилось на протяжении 2 пассажей, смену питательной среды во флаконах осуществляли каждые три дня. Иммуногистохимический анализ образцов проводился на автостейнере «Ventana», USA [1]. Для морфологического исследования окрашивание клеток проводилось по Паппенгейму, площадь окрашен-

ных клеток измеряли с помощью окуляр-микрометра. Статистическую обработку результатов проводили, используя программы MS Excel и STATISTICA 6, для оценки значимости различий использовали критерий Манна – Уитни.

Результаты

По итогам иммуногистохимического исследования экспрессия рецепторов эстрогена и прогестерона не выявлена в обоих случаях, уровень мембранной экспрессии HER-2/ neu оценивалась в первом образце в 2+, во втором образце — 0. После проведения флуоресцентной гибридизации амплификация гена HER-2/ neu в первом образце отсутствует. В обоих образцах ядерный индекс пролиферации клеток опухоли Ki-67 составлял 50%. Таким образом, биологические подтипы образцов опухоли обеих пациенток относились к тройному негативному. При исследовании первичной культуры клеток был выявлен значительный клеточный полиморфизм в обоих образцах, который выражался в наличии морфологически различных субпопуляций клеток. В первой популяции определялись мелкие округлые клетки с низкой оптической плотностью цитоплазмы, слабо прикрепленные к поверхности флаконов. Вторая субпопуляция включала крупные клетки неправильной формы с отчетливыми контурами, большими ядрами и наличием цитоплазматической зернистости, распластанных по поверхности.

На протяжении культивирования при морфологическом исследовании отмечено возрастание доли более крупных клеток, размеры которых варьировали от $8,5 \pm 0,52$ мкм в первичной культуре до $17,0 \pm 1,30$ мкм на втором пассаже ($p < 0,05$).

Выводы

В обоих образцах опухоли отмечается высокая пролиферативная активность клеток, которая подтверждается гетерогенностью и тенденцией к увеличению размеров клеток в культурах, что должно учитываться при дальнейшем культивировании с целью создания персонифицированных экспериментальных моделей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сазонов С.В. Обеспечение качества молекулярно-биологических исследований при диагностике инвазивного рака молочной железы/ Екатеринбург, ВУМАН, 2018. – 153 с.
2. Геращенко Т.С., Завьялова М.В. и др. Внутриопухолевая морфологическая гетерогенность рака молочной железы, как фактор, отражающий метастатический потенциал и чувствительность опухоли к химиотерапии/ АСТА NATURE, 2017. - Том 9, -№1 (32). С. 60-72
3. Сазонов С.В. Бриллиант А.А., Бриллиант Ю.М., Фадеев Ф.А. , Демидов С.М. Опыт культивирования клеток карциномы молочной железы люми-

нального подтипа//Материалы VII межрегиональной научно-практической конференции «Клеточные технологии – практическому здравоохранению». Екатеринбург. 6 декабря 2018 г. С. 115 - 128

Работа выполнена в рамках государственного задания УГМУ № 056-00151-18-00

***Береснева О.Ю., Жегалина Н.М.,
Дейнега А.Н., Гостеева А.Б.***

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ У ЛИЦ С РАЗЛИЧНЫМ ТИПОМ ПИТАНИЯ

ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет,
г. Екатеринбург, Российская Федерация

Введение

Для оценки функциональной активности эпителиоцитов слизистых оболочек в настоящее время используют различные методы, основанные на изучении их морфологии, выявлении клеточных маркеров и рецепторов (иммуногистохимия), продукции цитокинов, медиаторов, а также уровня естественной колонизации нормальной микрофлорой. Способность к адгезивным взаимодействиям является важнейшей функциональной характеристикой эпителиоцитов. Прикрепление микроорганизма к клеткам слизистых оболочек имеет два механизма. Первый — определяется гидрофобными, электростатическими или прочими слабыми взаимодействиями в системе «эпителиоцит-микроорганизм». Второй механизм — рецептор-зависимый — является результатом метаболической активности мукозальных клеток. Способность к адгезивным взаимодействиям является важнейшей функциональной характеристикой клеток эпителия полости рта. Определение уровня естественной колонизации буккального эпителия полости рта используется для раннего выявления патологических сдвигов в организме, позволяет судить об активности различных заболеваний [1, 2, 3, 4].

Цель исследования — определить функциональную активность клеток буккального эпителия у лиц с вегетарианским и смешанным типом питания.